

# HPLC法同时测定参芪五味子胶囊中五味子酯甲和五味子甲素的含量

孙慧珠\*,徐乐,袁浩,刘永利\*(河北省食品药品检验院,石家庄 050011)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)08-0752-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.08.26

**摘要** 目的:建立同时测定参芪五味子胶囊中五味子酯甲和五味子甲素含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Waters Xterra Ms C<sub>18</sub>,流动相为乙腈-四氢呋喃-水(18:18:64, V/V/V),流速为1.0 ml/min,检测波长为222 nm,柱温为25℃,进样量为10 μl。结果:五味子酯甲和五味子甲素进样量分别在0.026 2~0.418 4、0.024 9~0.398 4 μg范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系(均 $r=0.999 9$ );精密度、稳定性、重复性试验的RSD≤1.7%;平均加样回收率分别为101.1%、100.8%,RSD分别为1.6%、1.5%( $n=9$ )。结论:该方法重复性好、灵敏度高、结果准确可靠,可用于参芪五味子胶囊的质量控制。

**关键词** 参芪五味子胶囊;五味子酯甲;五味子甲素;高效液相色谱法

## Simultaneous Determination of Schisantherin and Deoxyschizandrin in Shenqi Wuweizi Capsule by HPLC

SUN Hui-zhu, XU Le, YUAN Hao, LIU Yong-li (Hebei Institute for Food and Drug Control, Shijiazhuang 050011, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the determination of schisantherin and deoxyschizandrin in Shenqi wuweizi capsule. METHODS: The separation was performed on Waters Xterra Ms C<sub>18</sub> column with acetonitrile-tetrahydrofuran-water (18:18:64, V/V/V) as mobile phase at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 222 nm, and the column temperature was 25 °C. The injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range of schisantherin and deoxyschizandrin were 0.026 2-0.418 4 and 0.024 9-0.398 4 μg ( $r=0.999 9$ ); RSDs of precision, stability and reproducibility tests were all lower than 1.7%; the average recoveries were 101.1% (RSD=1.6%,  $n=9$ ) and 100.8% (RSD=1.5%,  $n=9$ ), respectively. CONCLUSIONS: The method is proved to be simple and accurate, and it provides a more comprehensive scientific basis for the quality evaluation of Shenqi wuweizi capsule.

**KEYWORDS** Shenqi wuweizi capsule; Schisantherin; Deoxyschizandrin; HPLC

参芪五味子胶囊由南五味子、黄芪、党参、炒酸枣仁组成,临床上主要用于气血不足、心脾两虚所致的失眠、多梦等。方中南五味子为木兰科植物华中五味子的干燥成熟果实。2005年版《中国药典》(一)部中首次将其与五味子(北五味子)区别,并首次以南五味子的名称收载<sup>[1]</sup>。南五味子中主要含有木脂素类及挥发油成分,而木脂素类主要包括五味子甲素、五味子乙素、五味子酯甲等<sup>[2]</sup>。现有文献报道多单独测定参芪五味子胶囊中的五味子甲素或五味子酯甲的含量,同时测定两种成分的报道较少。为更好地控制参芪五味子胶囊的质量,本研究拟同时测定五味子酯甲和五味子甲素两种成分<sup>[3]</sup>。

## 1 材料

### 1.1 仪器

1200型高效液相色谱(HPLC)仪(美国Agilent公司);KQ-400KDE超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司);AE240型分析天平(瑞士Mettler toledo公司)。

### 1.2 药品与试剂

五味子酯甲、五味子甲素对照品(中国食品药品检定研究院,批号:111529-200503、110764-200408);参芪五味子胶囊

(购自药店,批号:20110401、20110402、20110403、20110404、20110405、20110406);甲醇、乙腈、四氢呋喃为色谱纯(美国Merck公司);水为去离子水。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件与系统适用性试验

色谱柱:Waters Xterra MS C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-四氢呋喃-水(18:18:64, V/V/V);柱温:25℃;检测波长:222 nm;流速:1.0 ml/min;进样量:10 μl。该色谱条件下,五味子酯甲和五味子甲素可达到基线分离,理论板数按五味子酯甲峰计大于12 000。

### 2.2 溶液的制备

2.2.1 对照品溶液 精密称取五味子酯甲、五味子甲素对照品0.010 46、0.009 96 g,分别置于50 ml量瓶中,加入甲醇适量使溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品贮备液。分别精密量取上述对照品贮备液1 ml,置于同一10 ml量瓶中,加70%甲醇稀释至刻度,摇匀,即得对照品溶液。

2.2.2 供试品溶液 取参芪五味子胶囊内容物适量,研细,取约1 g,精密称定,置于具塞锥形瓶中,加入70%甲醇20 ml,密塞,称定质量,超声处理(功率:400 W,频率:40 kHz)20 min,取出,放冷,再称定质量,用70%甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过。精密量取续滤液2 ml,置于10 ml量瓶中,用70%甲醇稀释至刻度,摇匀,滤过,即得。

\* 药师,硕士。研究方向:中药质量标准。电话:0311-85212004-8042。E-mail:sunhuizhu@163.com

# 通信作者:主任药师,硕士。研究方向:中药质量标准。电话:0311-85212004-8041。E-mail:liuyongli2008@126.com

2.2.3 阴性对照溶液 按照参芪五味子胶囊处方比例称取除南五味子外的其他药味,制备阴性样品,再按“2.2.2”项下方法制备溶液,即得。

### 2.3 专属性试验

精密吸取上述对照品溶液、供试品溶液与阴性对照溶液各 10  $\mu$ l,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录色谱,详见图 1。结果,供试品色谱中呈现与对照品色谱保留时间一致的色谱峰,而阴性对照溶液在对照品色谱相应位置处无吸收峰,表明在该试验条件下,其他成分对测定结果无干扰,专属性好。

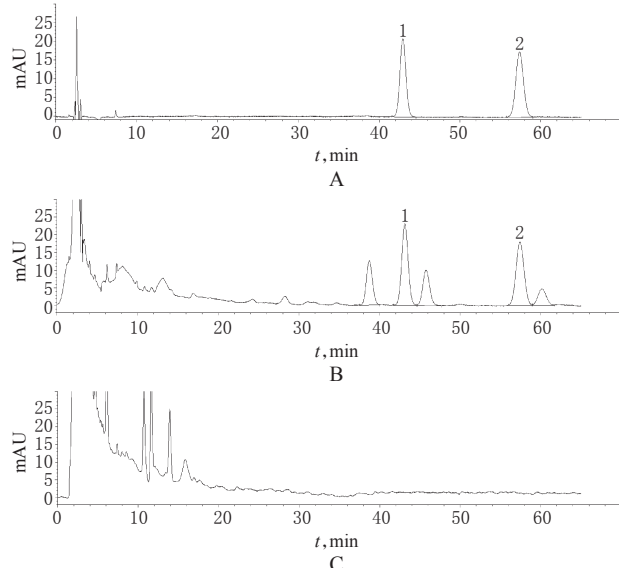


图 1 高效液相色谱图

A. 对照品; B. 供试品; C. 阴性对照; 1. 五味子酯甲; 2. 五味子甲素

Fig 1 HPLC chromatograms

A. standard sample; B. test sample; C. negative sample; 1. schisantherin; 2. deoxyschizandrin

### 2.4 线性关系考察

精密量取对照品溶液 2.5 ml,置于 10 ml 量瓶中,加 70% 甲醇稀释至刻度,摇匀,得对照品溶液 II。精密量取对照品溶液 II 5、10、20  $\mu$ l,注入 HPLC 仪,按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。以进样量( $x, \mu$ g)为横坐标,峰面积积分值( $y$ )为纵坐标,进行线性回归,得五味子酯甲、五味子甲素回归方程分别为  $y=4\ 776.6x+12.8$  ( $r=0.999\ 9$ )、 $y=5\ 311.3x+19.012$  ( $r=0.999\ 9$ )。结果表明,五味子酯甲和五味子甲素进样量分别在 0.026 2~0.418 4、0.024 9~0.398 4  $\mu$ g 范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系。

### 2.5 精密度试验

精密吸取“2.2.1”项下对照品溶液 10  $\mu$ l,注入 HPLC 仪,重复进样 6 次,测定峰面积。结果,五味子酯甲和五味子甲素精密度的 RSD 分别为 0.9%、1.1%,表明仪器精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

精密吸取同一批供试品溶液适量,分别在 0、2、4、8、12、24 h 时按“2.1”项下色谱条件进样测定,记录峰面积。结果,五味子酯甲和五味子甲素的 RSD 分别为 0.6%、1.7%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

### 2.7 重复性试验

称取同一批样品(批号:20110405)约 0.8、1.0、1.2 g,各三份,精密称定,按“2.2.2”项下方法制备 9 份供试品溶液,分别按

“2.1”项下色谱条件进样测定。结果,含五味子酯甲量为 1.960 7 mg/g, RSD=1.7%; 含五味子甲素量为 1.748 1 mg/g, RSD=0.7%,表明本方法重复性良好。

### 2.8 加样回收率试验

取已知含量的参芪五味子胶囊样品 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,分别精密加入低、中、高浓度对照品溶液各 20 ml,按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算加样回收率,结果见表 1。

表 1 加样回收率试验结果 ( $n=9$ )

Tab 1 Results of recovery test ( $n=9$ )

| 待测成分    | 取样量, g  | 样品含量, mg | 加入量, mg | 测得量, mg | 加样回收率, % | 平均加样回收率, % | RSD, % |
|---------|---------|----------|---------|---------|----------|------------|--------|
| 五味子酯甲   | 0.503 1 | 0.986 4  | 0.705 6 | 1.681 3 | 98.48    |            |        |
|         | 0.503 4 | 0.9870   | 0.705 6 | 1.700 3 | 101.09   |            |        |
|         | 0.501 4 | 0.983 1  | 0.705 6 | 1.688 3 | 99.94    |            |        |
|         | 0.501 8 | 0.983 9  | 0.940 8 | 1.949 0 | 102.58   |            |        |
|         | 0.503 6 | 0.987 4  | 0.940 8 | 1.954 7 | 102.82   | 101.1      | 1.6    |
|         | 0.501 7 | 0.983 7  | 0.940 8 | 1.957 1 | 103.47   |            |        |
|         | 0.502 6 | 0.985 4  | 1.176 0 | 2.169 6 | 100.70   |            |        |
|         | 0.502 5 | 0.985 3  | 1.176 0 | 2.159 0 | 99.80    |            |        |
|         | 0.502 0 | 0.984 3  | 1.176 0 | 2.176 5 | 101.38   |            |        |
|         | 五味子甲素   | 0.503 1  | 0.879 5 | 0.621 8 | 1.505 5  | 100.68     |        |
| 0.503 4 |         | 0.880 0  | 0.621 8 | 1.518 7 | 102.72   |            |        |
| 0.501 4 |         | 0.876 5  | 0.621 8 | 1.512 5 | 102.28   |            |        |
| 0.501 8 |         | 0.877 2  | 0.829 2 | 1.701 1 | 99.36    |            |        |
| 0.503 6 |         | 0.880 3  | 0.829 2 | 1.731 4 | 102.64   | 100.8      | 1.5    |
| 0.501 7 |         | 0.877 0  | 0.829 2 | 1.703 3 | 99.65    |            |        |
| 0.502 6 |         | 0.878 6  | 1.036 4 | 1.903 4 | 98.88    |            |        |
| 0.502 5 |         | 0.878 4  | 1.036 4 | 1.923 6 | 100.85   |            |        |
| 0.502 0 |         | 0.877 5  | 1.036 4 | 1.914 7 | 100.08   |            |        |

### 2.9 样品含量测定

取 6 批参芪五味子胶囊样品适量,分别按“2.2.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.1”项下色谱条件进样测定,计算五味子酯甲和五味子甲素的含量,结果见表 2。

表 2 样品含量测定结果 (mg/g,  $n=6$ )

Tab 2 Content determination of samples (mg/g,  $n=6$ )

| 批号       | 五味子酯甲 | 五味子甲素 |
|----------|-------|-------|
| 20110401 | 2.00  | 1.88  |
| 20110402 | 1.97  | 1.86  |
| 20110403 | 1.92  | 1.75  |
| 20110404 | 1.95  | 1.76  |
| 20110405 | 2.08  | 1.83  |
| 20110406 | 2.04  | 1.86  |

## 3 讨论

### 3.1 流动相的选择

南五味子含有多种木脂素类成分,各成分性质相近,难以分离,因此首选洗脱能力强的乙腈-水、乙腈-磷酸系统,但是均不能达到有效分离。笔者尝试在有机相里加入四氢呋喃后,各色谱峰分离较好,系统适用性良好,且大大缩短了分析时长,因此确定乙腈-四氢呋喃-水 (18:18:64,  $V/V/V$ ) 为流动相。

### 3.2 检测波长的选择

分别称取五味子酯甲、五味子甲素对照品适量,用 70% 甲醇配制成适宜浓度的对照品溶液,采用二极管阵列检测器在 200~400 nm 波长进行光谱扫描。结果,五味子酯甲在 222 nm 波长处有最大吸收,五味子甲素在 216 nm 波长处有最大吸收。因在 222 nm 波长下待测成分与杂质分离度较好,故选定

# HPLC法测定磷酸伯氨喹片的含量及均匀度

杨颖\*,李思源(广州市药品检验所,广州 510160)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)08-0754-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.08.27

**摘要** 目的:建立测定磷酸伯氨喹片含量及均匀度的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为Inertsil C<sub>8</sub>,流动相为水-乙腈-四氢呋喃-三氟乙酸(90:9:1:0.1, V/V/V/V),检测波长为265 nm,流速为1.5 ml/min,柱温为40 ℃,进样量为10 μl。结果:磷酸伯氨喹检测质量浓度在128.069~384.206 μg/ml范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系( $r=0.9999$ );精密性、稳定性、重复性试验的RSD≤0.5%;平均加样回收率为100.6%,RSD=0.3%( $n=9$ );含量均匀度的A+1.80S在7.3~11.3之间。结论:该方法操作简单、准确性高、专属性强,适用于磷酸伯氨喹片的质量控制。

**关键词** 磷酸伯氨喹片;高效液相色谱法;含量;含量均匀度

## Content Determination and Content Uniformity of Primaquine Phosphate Tablets by HPLC

YANG Ying, LI Si-yuan (Guangzhou Institute for Drug Control, Guangzhou 510160, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish the method for content determination and content uniformity of Primaquine phosphate tablets. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Inertsil C<sub>8</sub> column with mobile phase consisted of water-acetonitrile-tetrahydrofuran-trifluoroacetic acid (90:9:1:0.1, V/V/V/V) at flow rate of 1.5 ml/min. The detection wavelength was set at 265 nm and column temperature was 40 ℃. The injection volume was 10 μl. RESULTS: The linear range of primaquine phosphate was 128.069-384.206 μg/ml ( $r=0.9999$ ). RSDs of precision, stability and reproducibility tests were lower than 0.5%; average recovery was 100.6% (RSD=0.3%,  $n=9$ ). A+1.80S of content uniformity were between 7.3-11.3. CONCLUSIONS: The method is easy to operate with good accuracy and specificity. It can be used for the quality control of Primaquine phosphate tablets.

**KEYWORDS** Primaquine phosphate tablets; HPLC; Content; Content uniformity

磷酸伯氨喹是一种抗疟药,用于根治间日疟和控制疟疾传播<sup>[1]</sup>,易引发疲劳、头晕、恶心、呕吐、腹痛及药物热等不良反应<sup>[2]</sup>。目前,在非洲及东南亚等疟疾多发地该药仍被广泛使用,在国内也被作为战略物资,其原料及片剂一直被保留生产。磷酸伯氨喹片在《中国药典》2010年版、《美国药典》35版、

《国际药典》第4版均有收载<sup>[3-5]</sup>。笔者在对比各国药典方法的基础上,参照《美国药典》35版所采用的高效液相色谱(HPLC)法建立了磷酸伯氨喹片的含量及均匀度的测定方法。

### 1 材料

LC-20AT型HPLC仪,包括泵、紫外检测器、自动进样器、

检测波长为222 nm。

### 3.3 提取溶剂的选择

笔者分别考察了甲醇、30%甲醇、50%甲醇、70%甲醇作为提取溶剂的提取效率,结果以30%甲醇、50%甲醇为提取溶剂的提取结果偏低,以甲醇、70%甲醇溶液作为提取溶剂的提取结果相近,但甲醇提取杂质较多,而70%甲醇黏度小、易于过滤,因此选定70%甲醇溶液作为提取溶剂。

### 3.4 提取方法的选择

选定70%甲醇为提取溶剂,分别考察了超声提取法与加热回流法的提取效率,两者结果无差别,因此选定操作简便的超声提取法。同时,考察了不同超声时间(10、20、30 min)对测定结果的影响,结果超声提取20、30 min结果较超声提取10 min略高,但两者之间结果相近。综合考虑,选择超声提取20 min。

综上所述,本方法重复性好、灵敏度高、结果准确可靠,可用于参芪五味子胶囊的质量控制。

\* 副主任药师。研究方向:化学药品检验及药品标准。电话:020-26282199。E-mail: elaineyzyty@163.com

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2005年版. 北京: 化学工业出版社, 2005: 169.
- [2] 金鑫, 辛爱学. 南五味子提取工艺研究[J]. 中国现代药物应用, 2009, 3(6): 149.
- [3] 楼招欢, 吕圭源, 陈素红. 南、北五味子及其炮制品中木脂素类成分比较研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 43.
- [4] 周进东, 陆兔林, 毛春芹, 等. HPLC测定五味子不同炮制品中6种木脂素类成分的含量[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(17): 1353.
- [5] 李晓亮, 易进海, 刘云华, 等. 南五味子、五味子HPLC指纹图谱研究和木脂素成分测定[J]. 中成药, 2011, 33(6): 920.
- [6] 程敏, 王露, 宋小妹. HPLC法测定五味子品种中木脂素含量[J]. 西北大学学报: 自然科学版, 2011, 41(3): 459.

(收稿日期:2013-09-28 修回日期:2013-12-30)